

Die Glykoside der Samen
von *Acokanthera friesiorum* *Markgr.*

Verkürzte Fassung der
INAUGURALDISSERTATION

zur Erlangung der philosophischen Doktorwürde, vorgelegt der
Philosophisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Universität Basel

von

HARALD MUHR
aus Zürich

BASEL
Buchdruckerei E. Birkhäuser & Cie. AG.
1954



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548825_0025

Die Glykoside der Samen
von *Acokanthera friesiorum* *Markgr.*

Verkürzte Fassung der
INAUGURALDISSERTATION

zur Erlangung der philosophischen Doktorwürde, vorgelegt der
Philosophisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Universität Basel

von

HARALD MUHR
aus Zürich

BASEL
Buchdruckerei E. Birkhäuser & Cie. AG.
1954

Genehmigt von der Philosophisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät auf Antrag der Herren Professoren Dr. T. Reichstein und Dr. H. Erlenmeyer.

Basel, den 28. April 1953.

Prof. Dr. P. Huber
Dekan.

Herrn *Harald Muhr* wurde von der Philosophisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der Universität Basel am 28. April 1953 erlaubt, diese verkürzte Fassung seiner am 28. April 1953 genehmigten Inauguraldissertation drucken zu lassen. Die vollinhaltliche Arbeit mit dem Titel:

Die Glykoside der Samen von Acokanthera friesiorum Markgr.

kann eingesehen werden:

1. im Organisch-Chemischen Institut der Universität Basel;
2. in der Universitätsbibliothek Basel;
3. in der Schweizerischen Landesbibliothek in Bern.



Die Glykoside der Samen von *Acokanthera friesiorum* Markgr.¹⁾.

Vor einiger Zeit wurde über die Glykoside der Wurzelrinde von *Acokanthera friesiorum* Markgr. berichtet²⁾. Die Pflanze wird von vielen Botanikern lediglich als eine kleinblättrige Variante von *A. schimperi* Benth et Hook angesehen. Um so auffallender war es, dass aus der Wurzelrinde eine reichliche Menge Acovenosid A, aber kein Ouabain isoliert werden konnte, da Ouabain das Hauptglykosid des Holzes von *A. schimperi* darstellen soll³⁾. Da auch bei *Acokanthera*-Arten die Samen besonders glykosidreich sind und die aus den Samen isolierten Rohglykoside weniger störende Begleitstoffe enthalten und daher leichter zu trennen sind als entsprechende Konzentrate aus Holz oder Rinde, wurden inzwischen auch noch die Samen von *A. friesiorum* Markgr. untersucht.

Beschaffung des Ausgangsmaterials. Es standen insgesamt 6,2 kg reife Samen zur Verfügung, die von Herrn P. R. O. Bally am 5. März und 9. April 1950 am früher angegebenen Ort²⁾ gesammelt und per Luftpost nach Basel spedit wurden.

Extraktion der Samen. Es wurden insgesamt 2,7 kg Samen in 2 Portionen verarbeitet. Dies geschah zunächst genau wie bei *Acokanthera venenata* Don beschrieben⁴⁾. Um das stark wasserlösliche Ouabain nicht zu verlieren, wurden die Chloroform-Alkohol-(2:1)-Extrakte nur mit kleinen Mengen Sodalösung und Wasser gewaschen. Die verbliebene wässrige Phase wurde dann noch im Vakuum eingengt und nach Halbsättigung mit Na₂SO₄ mit Chloroform-Alkohol-(3:2) ausgeschüttelt⁵⁾. Es wurden dabei die in Tab. I aufgeführten Mengen an Rohglykosiden erhalten.

Untersuchung des Chloroformextrakts. Diese Extrakte gaben bereits beim Eindampfen reichliche Mengen von Kristallen.

1) Die mit Buchstaben bezeichneten Fussnoten siehe bei den Formeln.

2) P. R. O. Bally, K. Mohr & T. Reichstein, Helv. 35, 45 (1952).

3) Vgl. Literaturangabe bei 2).

4) J. v. Euw & T. Reichstein, Helv. 33, 485 (1950).

5) Vgl. Prüfung auf Ouabain bei J. v. Euw, H. Hess, P. Speiser & T. Reichstein, Helv. 34, 1821 (1951), sowie P. R. O. Bally, K. Mohr & T. Reichstein, Helv. 34, 1740 (1951).

Nach mehrmaligem Umkristallisieren wurden etwas über 27 g (1%) reines Acovenosid A erhalten. Die vereinigten Mutterlaugen wurden zunächst an Al_2O_3 chromatographiert. Dabei liessen sich mit einiger Mühe neben weiteren Mengen Acovenosid A zwei Kristallisate abtrennen, die beide Gemische darstellten. Das erste wird als „Kristallisat Nr. 4“ bezeichnet; es gab im Papierchromatogramm nur einen Fleck¹⁾. Eine Trennung gelang durch Verteilungschromatographie²⁾ (vgl. Fig. 3 im exper. Teil). Dabei liess sich zuerst eine kleine Menge eines wahrscheinlich neuen Glykosids eluieren, das einen Doppel-Smp. $185^\circ/224-233^\circ$ zeigte, und das wir Acofriosid M nennen. Weiter folgte ein zweites, wahrscheinlich ebenfalls neues Glykosid, das wir Acofriosid L nennen; es stellt die Hauptkomponente des „Kristallisats Nr. 4“ dar. Kurz anschliessend liess sich noch etwas Acolongiflorosid E^{f)} eluieren.

Tabelle I.

Ausbeute an rohen Extrakten.

Versuchs- Nummer	Menge der Samen	Chloroform- Extrakt	Chloroform- Alkohol-(2:1)- Extrakt	Chloroform- Alkohol-(3:2)- Extrakt
1	1 kg	27,11 g (2,71 %)	17,98 g (1,79 %)	24,5 g (2,45 %)
2	1,7 kg	47,2 g (2,78 %)	28,3 g (1,66 %)	47,0 g (2,76 %)

Das zweite Kristallisat wird als „rohes Acolongiflorosid H“ bezeichnet. Nach Farbreaktionen und nach Papierchromatogramm enthielt es als Hauptkomponente Acolongiflorosid H^{f)}, daneben konnte darin noch etwas Acolongiflorosid G^{f)} nachgewiesen werden.

Untersuchung des Chloroform-Alkohol-(2:1)-Extrakts. Dieser Extrakt liess sich direkt nicht kristallisieren. Im Papierchromatogramm wurden 2 Flecke erhalten. Eine Probe (5 g, entspr. 292 g Samen) wurde zunächst an Al_2O_3 chromatographiert. Die mittleren, mit Chloroform-Methanol eluierten Fraktionen gaben jetzt aus Methanol-Äther 0,310 g (0,106 %) krist. Ouabain. Die verbleibenden Mutterlaugen sowie die amorphen Fraktionen wurden acetyliert. Das Acetatgemisch gab teils durch direkte Kristallisation, teils nach Chromatographie an Al_2O_3 69 mg (0,024 %) Acolongiflorosid-K-acetat¹⁾. Dieses Acetat zeigt zwar ähnliche Eigenschaften wie Ouabainacetat, gibt bei der Mischprobe damit aber eine merkliche Depression. Auch die Löslichkeiten sind verschieden. Acolongiflorosid K (bisher nur amorph bekannt) und Ouabain zeigen auch im Papierchromatogramm³⁾

¹⁾ Später wurden auf mit „Quilon“ vorbehandeltem Papier 2 Flecke erhalten. (Vgl. Exper. Teil.)

²⁾ Ausführung nach H. Hegedüs, Ch. Tamm & T. Reichstein, *Helv.* **36**, 357 (1953).

³⁾ Mit Wasser als ruhender und n-Butanol als beweglicher Phase wurden nach 24 Std. die folgenden Laufstrecken erhalten: Ouabain 7 cm und Acolongiflorosid K 9 cm.

verschiedene Laufgeschwindigkeiten, wobei Ouabain etwas langsamer wandert. Andere Kristallisate liessen sich aus diesem Extrakt bisher nicht erhalten.

Untersuchung des Chloroform-Alkohol-(3:2)-Extrakts. Dieses Material zeigte keinen bitteren Geschmack, gab aber eine positive, wenn auch relativ schwache *Raymond*-Reaktion. Eine Probe (4 g) wurde an Al_2O_3 chromatographiert. Zwei mit Chloroform-Methanol (1:1) eluierte Fraktionen gaben positive *Raymond*-Reaktion. Dieses Material gab im Papierchromatogramm nur einen schwachen Fleck, dessen Laufstrecke ungefähr Ouabain entsprach. Kristalle konnten daraus bisher nicht isoliert werden.

In Tab. II sind die Ausbeuten an Kristallen sowie die Smp. und Drehungen der freien Glykoside und ihrer Acetate zusammengestellt. Die UV.-Absorptionsspektren sind in Fig. 1 gegeben. Soweit es sich um bekannte Stoffe handelt, stimmen diese Daten befriedigend mit früher gefundenen Werten überein¹⁾. Lediglich für *Acolongiflorosid H* wurde eine stark abweichende Drehung gefunden. Das hier isolierte Präparat war jedoch wie erwähnt nicht rein und beim Acetat war gute Übereinstimmung feststellbar.

Zusammenfassend lässt sich somit feststellen, dass es bei den Samen von *Acokanthera friesiorum* tatsächlich möglich war, eine kleine Menge (ca. 0,1 %) Ouabain zu isolieren. Als Hauptglykosid enthielten sie jedoch (ca. 1,7 %) *Acovenosid A* und daneben noch geringe Mengen von Begleitglykosiden, von denen einige früher in den Samen von *A. longiflora* gefunden wurden.

Herr Dr. K. K. Chen hatte die Freundlichkeit, „Kristallisat Nr. 4“ sowie *Acolongiflorosid E* an der Katze biologisch zu prüfen²⁾. Die Resultate sind in Tab. IV zusammengefasst; zum Vergleich sind auch die früher von ihm gefundenen Werte für die anderen aus *Acokanthera* isolierten Glykoside angegeben.

„Kristallisat Nr. 4“ wurde geprüft, bevor es als Gemisch erkannt war. Von reinem *Acofriosid L* war nicht genügend Material für eine Prüfung vorhanden. Da aber „Kristallisat Nr. 4“ als Hauptkomponente *Acofriosid L* und daneben noch besonders *Acolongiflorosid E* enthält, dürfte reines *Acofriosid L* ungefähr dieselbe Toxizität wie „Kristallisat Nr. 4“ besitzen. Auch die für *Acolongiflorosid H* gefundene Toxizität ist nur ein Näherungswert, da das geprüfte Präparat nicht ganz einheitlich war.

Abbauversuche. An *Acofriosid L* sowie an *Acolongiflorosid H* wurden Abbauversuche durchgeführt, die zu einer teilweisen Aufklärung der Konstitution führten.

¹⁾ Identitätsbeweise siehe exper. Teil.

²⁾ Es sei auch hier Herrn Dr. K. K. Chen, Indianapolis, bestens für die Überlassung dieser Resultate gedankt.

Tabelle II.

Substanz ¹⁾	Ausbeute in %	Smp.	$[\alpha]_D$	Wahrscheinlichste Bruttoformel	Methoxyl	Laufstrecke im Papierchromatogramm in cm
Acolongiflorosid E	0,015	261–264 ^o	– 34,7 (Me)	C ₃₀ H ₄₄ O ₈	1	30 ²⁾
Acetat		248–252 ^o	– 22,1 (Chf)	C ₃₄ H ₄₈ O ₁₀		
Acofriosid L (I)	0,058	248–253 ^o	– 54,1 (Me)	C ₃₀ H ₄₄ O ₈	1	27 ²⁾
Acetat (II)		225–230 ^o	– 35,8 (An)	C ₃₄ H ₄₈ O ₁₀		
Acovenosid A	1,77	223–226 ^o	– 65,0 (An)	C ₃₀ H ₄₆ O ₉	1	21 ²⁾
Acetat		232–234 ^o	– 59,4 (An) ¹⁾	C ₃₄ H ₅₀ O ₁₁		
Acofriosid M	0,0018	185/224 ^o	– 54,5 (Me)	C ₃₀ H ₄₆ O ₁₀	1	20 ²⁾
Acetat		amorph	—	—		
Acolongiflorosid G	0,0037	265–268 ^o	– 19,8 (Me)	C ₃₀ H ₄₆ O ₉	1	11 ²⁾
Acetat		247–252 ^o	– 7,0 (An)	C ₃₆ H ₅₂ O ₁₂		
Acolongiflorosid H (VIII)	0,098	249–255 ^o	– 42,8 (Me)	C ₃₀ H ₄₄ O ₉	1	7 ²⁾
Acetat (IX)		209–215 ^o	– 34,4 (An)	C ₃₆ H ₅₂ O ₁₂		
Acolongiflorosid K	0,024	amorph	—	—	0	9 ³⁾
Acetat		293–295 ^o (Zers.)	– 40,5 (Chf)	C ₄₁ H ₅₆ O ₁₈		
Ouabain	0,106	183–187 ^o	– 44,3 (Me)	C ₂₉ H ₄₄ O ₁₂	0	7 ³⁾
Acetat		285–294 ^o	– 39,6 (Chf)	C ₄₁ H ₅₆ O ₁₈	0	

¹⁾ Die Substanzen gaben alle positive *Legal*- und *Raymond*-Reaktionen.

²⁾ Nach 18 Std. im System Formamid (stationär) und Benzol-Chloroform (7:5) als bewegliche Phase bei 17°. Die absoluten Werte schwanken stark. Die Zahlen geben nur ein ungefähres Mass.

³⁾ Nach 24 Std. im System Wasser als stationäre und n-Butanol als bewegliche Phase.

In Tab. III werden die Farbreaktionen der hier isolierten Präparate mit 84-proz. H_2SO_4 wiedergegeben.

Tabelle III.

Farbreaktion mit 84-proz. H_2SO_4 .

Substanz	Nach 1 Min.	10 Min.	30 Min.	1 Std.	4 Std.
Acolongiflorosid E	gelb	dunkelgelb	blass gelb	blass gelb-grau	farblos
Acetat	gelb	gelb	gelb	blass gelb	farblos
Acovenosid A	citron	citron	citron	blass gelb	blau grau-violett
Acetat	citron	citron	citron	blass gelb	blass grau-violett
Acofriosid L	lila-rot	lila-rot	lila	violett	blass blau-grau
Acetat	lila-rot	lila-rot	lila-rot	lila	blass violett
Acofriosid M	lila	gelb-orange	dunkelgelb	gelb, leicht fluoreszierend (24 Std. anhaltend)	
Acolongiflorosid G	rot-braun	blass rot-braun	blass rot-braun	blass rot-braun	blass grau
Acetat	rot-braun	blass rot-braun	blass rot-braun	blass rot-braun	blass grau
Acolongiflorosid H	violett	blau-violett	blau	blau	blass-grün
Acetat	violett	blau-violett	blau	blau	blass-grün
Acolongiflorosid-K-acetat	farblos	farblos	farblos	farblos	farblos
Ouabain	farblos	blass braun	blass braun	blass grau	farblos
Acetat	farblos	blass braun	blass braun	blass grau	farblos

Acofriosid L. Die Analyse passte auf die Summenformel $C_{30}H_{44}O_8$ mit einer Methoxylgruppe. Im UV.-Absorptionsspektrum (siehe Kurve I in Fig. 2) war keine Ketogruppe sichtbar. Acetylierung lieferte ein krist. Acetat (vermutlich ein Diacetat $C_{34}H_{48}O_{10}$), das gegen CrO_3 in Eisessig bei 18° mehrere Std. beständig war. Das Acetat gab mit Tetranitromethan eine deutliche Gelbfärbung.

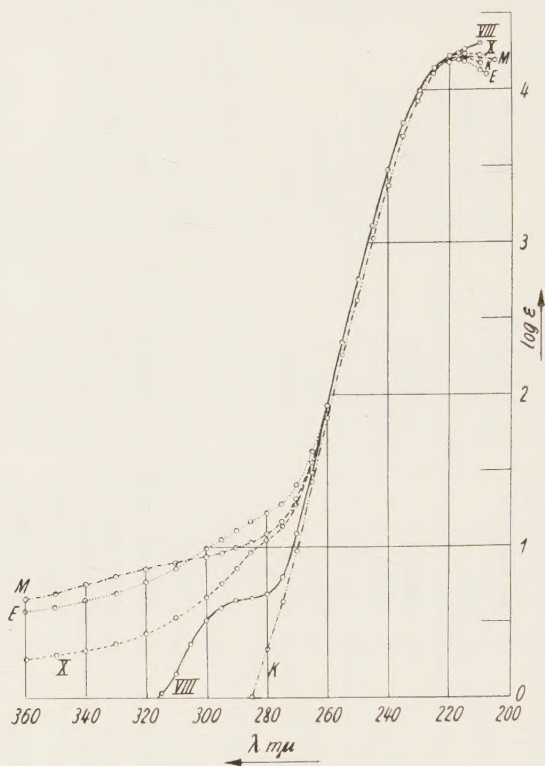


Fig. 1.

UV.-Absorptionsspektren in Alkohol¹⁾.

Kurve VIII = Acolongiflorosid H, steigende Endabsorption.

Kurve X = Genin H.M.15, Maximum bei $217\text{ m}\mu$ ($\log \epsilon = 4,24$), ber. auf $C_{23}H_{32}O_6$ (404,49).

Kurve E = Acolongiflorosid E, Maximum bei $217\text{ m}\mu$ ($\log \epsilon = 4,19$), ber. auf $C_{30}H_{44}O_8$ (532,65).

Kurve M²⁾ = Acofriosid M, Maximum undeutlich bei $217\text{ m}\mu$ ($\log \epsilon = 4,21$), ber. auf $C_{30}H_{46}O_{10}$ (566,67).

Kurve K = Acolongiflorosid-K-Acetat, Maximum bei $217\text{ m}\mu$ ($\log \epsilon = 4,24$), ber. auf $C_{41}H_{56}O_{18}$ (836,86).

¹⁾ Aufgenommen von Herrn Dr. P. Zoller mit einem „Beckman-Quartz-Spectrophotometer, Modell DU“.

²⁾ Kurve M wurde aufgenommen mit einem „Unicam Spectrophotometer Modell S.P.500“.

Tabelle IV.

Glykosid	Zahl der verwendeten Tiere	Geometrisches Mittel der letalen Dosis in mg/kg (Katze)
Acovenosid A	12	$0,2357 \pm 0,0160^1)$
Ouabain	—	$0,116 \pm 0,0027^2)$
Acolongiflorosid E	10	$0,2592 \pm 0,009$
„Kristallinat Nr. 4“	10	$0,2191 \pm 0,0095$
Acolongiflorosid H	10	$0,2864 \pm 0,0163^1)$
Acolongiflorosid K	10	$0,1624 \pm 0,01599^1)$

Um einen Einblick in die Konstitution von Acofriosid L zu gewinnen, wurde „Kristallinat Nr. 4“ mit HCl in Aceton gespalten³⁾⁴⁾.

Nach üblicher Aufarbeitung wurde aus den wasserlöslichen Anteilen ein krist. Zucker $C_7H_{14}O_5$ isoliert, der mit keinem bekannten Zucker identifiziert werden konnte, und den wir Acofriose nennen. Er besitzt wahrscheinlich Formel V eines L-Rhamnose-3-methyläthers⁵⁾. Die chloroformlöslichen Anteile waren ein Gemisch, aus dem sich nach Chromatographie an Al_2O_3 zwei gut krist. Stoffe isolieren liessen. Der schwerer eluierbare erwies sich als Acolongiflorosid E. Dieses Glykosid war, wie durch Verteilungschromatographie (vgl. Fig. 3 im exper. Teil) festgestellt wurde, im „Kristallinat Nr. 4“ enthalten. Es wird unter den benützten Bedingungen offenbar viel schwerer gespalten als Acofriosid L, so dass ein grosser Teil unverändert geblieben ist.

Der bei der Chromatographie leicht eluierbare Stoff, der höchst wahrscheinlich ein Spaltprodukt des im „Kristallinat Nr. 4“ als Hauptkomponente enthaltenen Acofriosids L darstellt, zeigte unerwartete Eigenschaften. Die Analyse passte auf die Formel $C_{23}H_{30}O_3$. Da Acofriosid L die Bruttoformel $C_{30}H_{44}O_8$ besitzt und einen Zucker $C_7H_{14}O_5$ enthielt, sollte ihm ein Aglykon $C_{23}H_{32}O_4$ zugrunde liegen. Der Stoff $C_{23}H_{30}O_3$ müsste demnach ein Anhydro-genin darstellen. Dementsprechend gab er mit Tetranitromethan eine sehr starke Gelbfärbung und liess sich nicht acetylieren. Das UV.-Absorptionsspektrum (vgl. Kurve VI in Fig. 2) zeigte ein intensives Maximum bei $226\text{ m}\mu$ ($\log \epsilon = 4,52$) mit Andeutungen einer Feinstruktur. Unter der Voraussetzung, dass der Stoff noch den α,β -ungesättigten Butenolidring enthält, muss sich das genannte Maximum durch Überlagerung der Absorption dieses Butenolidrings mit derjenigen eines weiteren

¹⁾ J. v. Euw & T. Reichstein, Helv. **33**, 485 (1950).

²⁾ K. K. Chen, A. L. Caen & R. C. Anderson, J. Am. Pharm. Assoc. **25**, 579 (1936); K. K. Chen, Ann. Rev. Physiol. **7**, 681 (1945).

³⁾ Methode von C. Mannich & G. Siewert, B. **75**, 737 (1942), Ausführung wie früher beschrieben, z.B. J. v. Euw & T. Reichstein, Helv. **33**, 485 (1950).

⁴⁾ Der Versuch wurde ausgeführt, als Kristallinat Nr. 4 noch nicht als Gemisch erkannt war.

⁵⁾ Siehe spätere Mitteilung.

chromophoren Systems zusammensetzen. Um die ungefähre Absorption des letzteren zu ermitteln, wurde die Differenzkurve Δ berechnet, die sich ergibt, wenn die Extinktionen des Acofriosids L von denjenigen des Stoffes $C_{23}H_{30}O_3$ abgezogen werden. Die so ermittelte Kurve Δ (vgl. Fig. 1) zeigt ein Maximum von $235 m\mu$ und $\log \varepsilon = 4,36$. Eine solche Bande könnte am ehesten von einem Dien oder einem α, β -ungesättigten Keton herrühren. Nimmt man an, dass das Genin des Acofriosids L ein normales digitaloides Lacton darstellt, so kommen für das Dianhydroderivat $C_{23}H_{30}O_3$ nur Formeln vom Typus VI oder

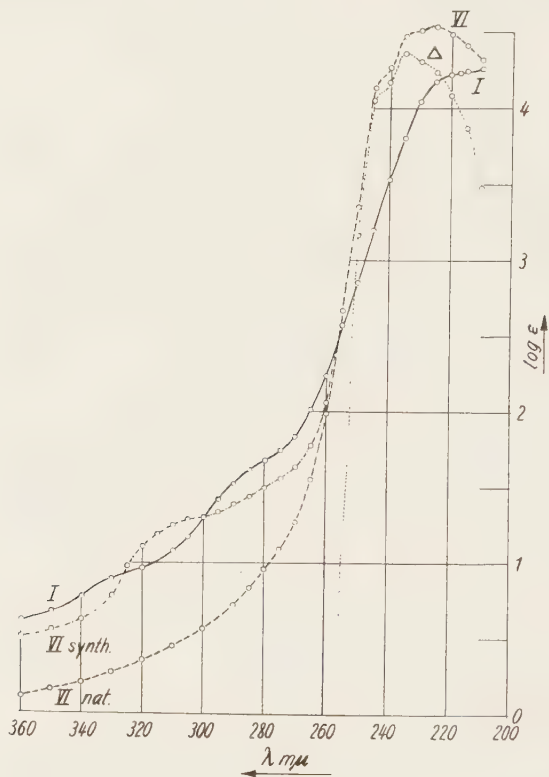


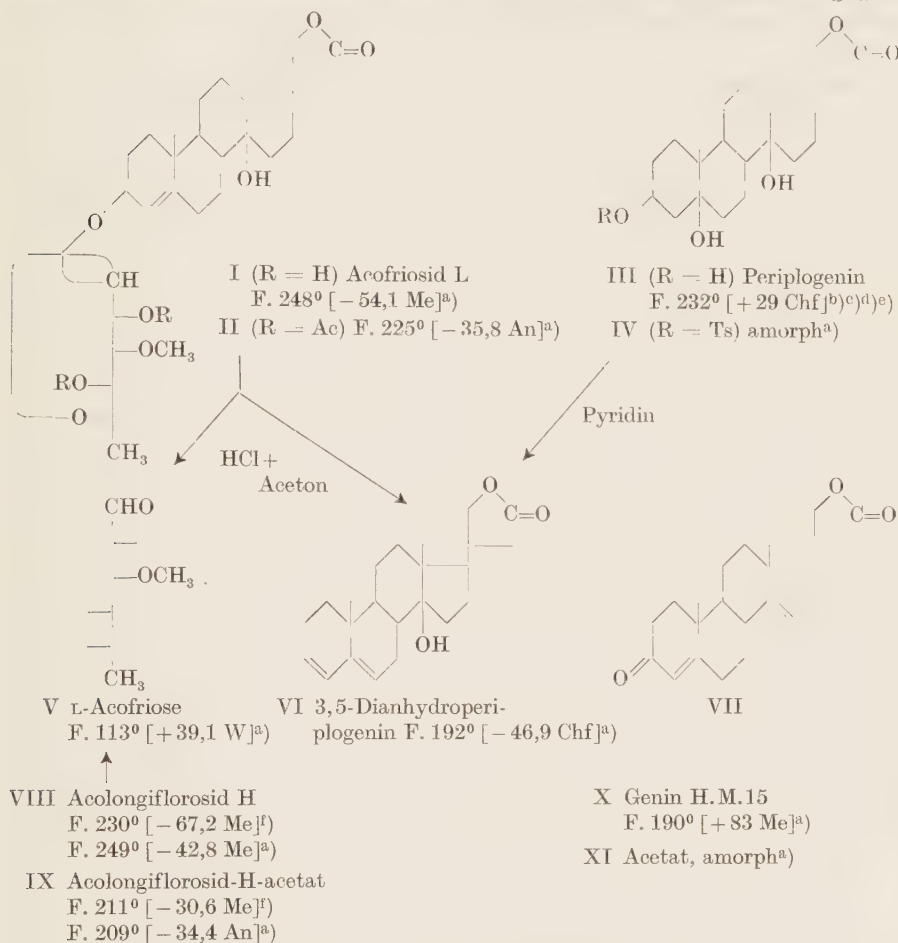
Fig. 2.

UV.-Absorptionsspektren in Alkohol¹⁾.

- Kurve I = Acofriosid L (I), Maximum undeutlich bei $217 m\mu$ ($\log \varepsilon = 4,22$), ber. auf $C_{30}H_{44}O_8$ (532,65).
 Kurve VI nat = Dianhydro-periplogenin aus I, Maximum bei $226 m\mu$ ($\log \varepsilon = 4,52$), ber. auf $C_{23}H_{30}O_3$ (354,47).
 Kurve VI synth = Dianhydro-periplogenin aus Periplogenin, Maximum bei $226,5 m\mu$ ($\log \varepsilon = 4,53$), ber. auf $C_{23}H_{30}O_3$ (354,47).
 Kurve Δ = Differenzkurve (VI-I), ber. Maximum bei $235 m\mu$ ($\log \varepsilon = 4,36$).

¹⁾ Aufgenommen von Herrn Dr. P. Zoller mit einem „Beckman-Quartz-Spectrophotometer, Modell DU“.

VII in Frage¹⁾. Für eine direkte Prüfung auf Anwesenheit einer Keto-
gruppe war das Material nicht ausreichend. Die Herren Dr. *H. M. E.*
Cardwell und Dr. *D. F. B. Strauss* (Oxford) waren so freundlich, das
IR.-Absorptionsspektrum aufzunehmen. Nach ihrem Bericht lassen
sich VII und eine ähnliche Formel weitgehend ausschliessen, dagegen



Ac = CH₃CO—, Ts = p-CH₃—C₆H₄SO₂—. Die Zahlen in eckigen Klammern geben
die spez. Drehung für Na-Licht in folgenden Lösungsmitteln an: An = Aceton, Chf =
Chloroform, Me = Methanol, W = Wasser.

^{a)} Exper. Teil dieser Arbeit.

^{b)} *W. A. Jacobs & A. Hoffmann*, J. Biol. Chem. **79**, 519 (1928).

^{c)} *W. A. Jacobs & M. M. Bigelow*, J. Biol. Chem. **99**, 521 (1933).

^{d)} *J. D. Lamb & S. Smith*, Soc. **1936**, 442.

^{e)} *A. Lardon*, Helv. **33**, 639 (1950).

^{f)} *P. R. O. Bally, K. Mohr & T. Reichstein*, Helv. **34**, 1740 (1951).

¹⁾ Die Ketogruppe sowie die Doppelbindungen könnten natürlich auch andere
Lagen einnehmen.

ist Formel VI mit dem IR.-Spektrum gut vereinbar¹). Auch das genannte UV.-Spektrum (Kurve 4) passt sehr gut auf ein Cholestadien-(3,5)²). Schliesslich konnte die Formel VI des Spaltproduktes durch Teilsynthese bewiesen werden. Periplogenin (III) wurde tosyliert und das amorphe, chromatographisch gereinigte Tosylat IV mit Pyridin erhitzt. Chromatographie des Reaktionsproduktes an Al_2O_3 gab in schlechter Ausbeute das 3,5-Dianhydro-periplogenin (VI), das nach Smp., Drehung und Mischprobe mit dem aus „Kristallisat Nr. 4“ erhaltenen Spaltprodukt identisch war. Auch das UV.-Spektrum (vgl. Kurve VI synth.) zeigte das charakteristische Maximum, das als Beweis für die Lage der 2 Doppelbindungen in 3,5-Stellung angesehen werden kann. Dagegen kommt dem Diensystem in VI ein weniger stark negativer Drehungsbeitrag zu als er bei normalen (14 α)-Steroiden bisher beobachtet wurde³).

Nimmt man an, dass das aus „Kristallisat Nr. 4“ erhaltene 14-Oxy-cardatrien-(3,5,20:22)-olid (VI) tatsächlich aus Acofriosid L stammt, so ergibt sich als wahrscheinlichste Konstitution für letzteres die Formel I, in der lediglich die Konfiguration an C-3 unsicher ist. Acofriosid L wäre dann ähnlich gebaut wie Scillaren A⁴) und Scilliglaucosid⁵). Eine analoge Formel mit Doppelbindung in 5-Stellung ist zwar nicht ausgeschlossen, sie würde aber die leichte Bildung des Diens VI nicht erklären. Um den Drehungsbeitrag der Doppelbindung abzuschätzen, kann man die molekulare Drehung des Acofriosids L ($[\text{M}]_{\text{D}} = -288^\circ \pm 11^\circ$ in Methanol) mit derjenigen von Evomonosid⁶) vergleichen, die $[\text{M}]_{\text{D}} = -159,3^\circ \pm 10^\circ$ in Methanol beträgt. Evomonosid ist ein α -L-Rhamnosid des Digitoxigenins⁷). Wenn Acofriose tatsächlich die vermutete Formel besitzt und mit dem Aglykon α -pyranosidisch verknüpft ist, und wenn das Genin des Acofriosids L in 3-Stellung β -Konfiguration besitzt, so muss der Drehungsbeitrag der Doppelbindung ungefähr $-119^\circ \pm 20^\circ$ betragen, da die einzelne Methylgruppe im Zuckeranteil keine grosse Änderung hervorrufen dürfte⁸).

¹) Wir danken den Herren Dr. Cardwell und Dr. Strauss auch hier für ihre Resultate.

²) Siehe die Zusammenstellung der Literaturwerte bei J. C. Hess (†), A. Hunger & T. Reichstein, Helv. **35**, 2211, Fussnote 1 (1952).

³) Cholestadien-(3,5) zeigt $[\text{M}]_{\text{D}} = -442^\circ$, Koprosterin zeigt $[\text{M}]_{\text{D}} = +109^\circ$, Differenz -551° . 3,5-Dianhydro-periplogenin (VI) zeigt $[\text{M}]_{\text{D}} = -166^\circ$, Digitoxigenin zeigt $[\text{M}]_{\text{D}} = +67^\circ$, Differenz $= -233^\circ$.

⁴) A. Stoll, J. Renz & A. Brack, Helv. **35**, 1934 (1952).

⁵) A. Stoll, A. v. Wartburg & J. Renz, Helv. **36**, 1531 (1953).

⁶) A. Meyrat & T. Reichstein, Pharm. acta Helv. **23**, 135 (1948).

⁷) Ch. Tamm & J. P. Rosselet, Helv. **36**, 1309 (1953).

⁸) 3 β -Oxycholesten-(4) zeigt $[\text{M}]_{\text{D}} = +170^\circ$, Cholesterin zeigt $[\text{M}]_{\text{D}} = -151^\circ$, Coprostanol zeigt $[\text{M}]_{\text{D}} = +109^\circ$. Für die Δ^4 -Doppelbindung ergibt sich somit ein Drehungsbeitrag von $+61^\circ$, für die Δ^5 -Doppelbindung ein solcher von -260° . — Wie oben beim Dien VI gezeigt, dürften aber für die 14 β -Steroide andere Werte in Frage kommen. Der geschätzte Wert von -119° spricht somit nicht eindeutig gegen die Δ^4 -Doppelbindung, obgleich er von dem Drehungsbeitrag der Δ^4 -Doppelbindung in normalen Sterinen stark abweicht.

Acolongiflorosid H. Auch dieses Glykosid wurde orientierend untersucht. Das hier isolierte Präparat war wie erwähnt nicht rein, es enthielt vor allem noch eine merkliche Menge Acolongiflorosid G und möglicherweise noch andere Verunreinigungen. Vom alten Präparat¹⁾ unterschied es sich hauptsächlich durch eine stark abweichende Drehung. Gleich waren die sehr charakteristische Farbreaktion mit 84-proz. H_2SO_4 und die Laufstrecke im Papierchromatogramm. Nach Acetylierung wurde ein krist. Acetat erhalten, das nach Smp., Drehung und Mischprobe mit dem alten Präparat¹⁾ identisch war.

Für Acolongiflorosid H wurde früher die Formel $\text{C}_{32}\text{H}_{46-48}\text{O}_{10}$ mit einer Acetyl- und einer Methoxyl-Gruppe vorgeschlagen. Das hier isolierte Präparat gab Analysenwerte, die befriedigend auf $\text{C}_{30}\text{H}_{44}\text{O}_9$ passten; nach einer mit saurer Verseifung durchgeführten Acetylbestimmung war es acetylfrei. Das Glykosid und sein Acetat gaben wie die ersten Präparate mit Tetranitromethan eine deutliche Gelbfärbung. Auch im UV.-Spektrum (vgl. Kurve VIII in Fig. 1) zeigte das neue Präparat des Glykosids wieder ein abnormes Verhalten bei kurzen Wellenlängen, indem bei $217\text{ m}\mu$ kein Maximum erhalten wurde, sondern weiter ansteigende Endabsorption. Das Vorhandensein einer Ketogruppe lässt sich aus dem UV.-Spektrum hingegen ausschliessen. Bei der Mikrohydrierung mit Pt in Eisessig nahm Acolongiflorosid H zwei Mol Wasserstoff auf, davon eines rasch, das zweite nach insgesamt $3\frac{1}{2}$ Std., worauf keine Aufnahme mehr erfolgte.

Acolongiflorosid H enthält als Zucker, wie unten gezeigt wird, ebenfalls Acofriose (V). Nimmt man an, dass das Glykosid gleich gebaut ist wie die bekannten digitaloiden Glykoside, so muss sein Aglykon die Formel $\text{C}_{23}\text{H}_{32}\text{O}_5$ besitzen und ausser dem Butenolidring noch eine isolierte Doppelbindung im Ringsystem enthalten. – Möglicherweise ist diese Doppelbindung daran schuld, dass Acolongiflorosid-H-acetat gegen CrO_3 in Eisessig bei 18° nicht sehr beständig ist (vgl. exper. Teil). Immerhin wurde nach solcher Behandlung ein kleiner Teil Ausgangsmaterial zurückerhalten, so dass das Acetat kaum eine freie sekundäre oder primäre HO-Gruppe enthalten dürfte. Zum Abbau wurden 1,83 g rohes Acolongiflorosid H in zwei Portionen mit HCl in Aceton gespalten. Der in ausgezeichneter Ausbeute erhaltene Zucker kristallisierte weitgehend und erwies sich als identisch mit der aus „Kristallinat Nr. 4“ erhaltenen Acofriose. Die 1,46 g chloroformlöslichen Anteile waren ein Gemisch, aus dem sich nach Chromatographie an Al_2O_3 69 mg krist. Acolongiflorosid G abtrennen liess, das im rohen Acolongiflorosid H enthalten war, und das offenbar merklich schwerer spaltbar ist als dieses. In schlechter Ausbeute (45 mg) wurde noch ein zweiter krist. Stoff erhalten, der bei der Chromatographie an Al_2O_3 auffallenderweise nur wenig leichter eluierbar war als Acolongiflorosid G, sich aber als zuckerfrei erwies. Wir nennen ihn Genin H.M. 15, denn wegen der sehr schlechten Ausbeute ist es höchst frag-

lich, ob es sich um das dem Acolongiflorosid H entsprechende Genin handelt; die stark verschiedene Farbreaktion mit 84-proz. H_2SO_4 spricht eher dagegen. Die Analyse passte auf die Formel $\text{C}_{23}\text{H}_{34}\text{O}_6$. Das UV.-Absorptionsspektrum (vgl. Kurve X in Fig. 1) zeigte nur das übliche Maximum bei ca. 217 m μ . Der Stoff gab mit Tetranitromethan nur eine äusserst schwache Gelbfärbung. Das Acetat kristallisierte bisher nicht, gab aber mit Tetranitromethan eine deutliche Gelbfärbung.

Zu dieser Arbeit standen uns Mittel aus den Arbeitsbeschäftigungskrediten des Bundes zur Verfügung, wofür auch hier bestens gedankt sei. Ferner danken wir Herrn Dr. Ch. Tamm für seine Hilfe bei der Abfassung und Korrektur des Manuskripts.

Experimenteller Teil.

Alle Smp. sind auf dem Kofler-Block bestimmt und korrigiert, Fehlergrenze in der benützten Ausführung bis 200° etwa $\pm 2^\circ$, darüber etwa $\pm 3^\circ$. Substanzproben zur Drehung wurden, wo nichts anderes erwähnt, 1 Std. bei 0,02 Torr und 70° getrocknet, zur Analyse 5 Std. bei 0,01 Torr und 100° über P_2O_5 mit Einwaage im Schweinchen. Übliche Aufarbeitung bedeutet: Eindampfen im Vakuum, Aufnehmen in Chloroform-Äther (soweit nichts anderes erwähnt), Waschen mit verd. HCl, Sodalösung und Wasser. Trocknen über Na_2SO_4 und Eindampfen. Die Chromatographien wurden nach der Durchlaufmethode¹⁾ ausgeführt, das dazu benützte Al_2O_3 wurde nach alter Angabe²⁾ von Alkali befreit, aber nur bei 180° reaktiviert. Legal-Reaktion³⁾, Keller-Kiliani-Reaktion⁴⁾, Zuckerprüfung⁵⁾, Tüpfelprobe mit Raymond-Reagens⁶⁾ sowie Papierchromatographie⁶⁾⁷⁾ und Verteilungschromatographie⁸⁾ nach früheren Angaben.

Extraktion der Samen

(ausgeführt im Dezember 1950).

1 kg Samen wurde genau wie bei *Acokanthera venenata*⁹⁾ und *A. longiflora*^{f)} behandelt. — Nach der Reinigung mit $\text{Pb}(\text{OH})_2$ wurde bei pH = 6 auf 1 l eingengt. Diese wässrige Lösung, aus der bereits Acovenosid A auskristallisierte, wurde zunächst sechsmal mit je 800 cm³ Chloroform, dann zwölfmal mit je 1 l Chloroform-Alkohol (2:1) ausgeschüttelt. Diese Auszüge wurden der Reihe nach (im Gegenstrom) je einmal mit 50 cm³ Wasser, 50 cm³ Sodalösung und 50 cm³ Wasser gewaschen und über Na_2SO_4 getrocknet. Die getrockneten Chloroform-Extrakte wurden zunächst auf 600 cm³ eingengt und 16 Std. bei 18° stehengelassen, worauf 12,75 g rohes Acovenosid A (Smp. 160–166°/220–226°) auskristallisierten. Die Mutterlauge gab aus Methanol-Äther zunächst nochmals 4,0 g rohes Acovenosid A (Smp. 203–212°), dann 1 g eines Kristallisats vom Smp. 245–255°, das aus Methanol-Äther umkristallisiert 650 mg rohes Acolongiflorosid H^{f)} vom Smp. 252–259° lieferte. Es verblieben 9,36 g amorphe Mutterlaugen aus Chloroformextrakt (Teil S_1), die zur Chromatographie (siehe unten) benützt wurden. Dieses Material war ein fast farbloser, stark bitter schmeckender Schaum.

¹⁾ T. Reichstein & C. W. Shoppee, Discussions of the Faraday Soc. **1949**, Nr. 7, 305.

²⁾ J. v. Euw, A. Lardon & T. Reichstein, Helv. **27**, 1292, Fussnote 2 (1944).

³⁾ W. A. Jacobs & A. Hoffmann, J. Biol. Chem. **67**, 333 (1926), in Ausführungsform von K. Reyle & T. Reichstein, Helv. **35**, 98 (1952).

⁴⁾ J. v. Euw & T. Reichstein, Helv. **31**, 883 (1948).

⁵⁾ P. R. O. Bally, K. Mohr & T. Reichstein, Helv. **34**, 1740 (1951).

⁶⁾ O. Schindler & T. Reichstein, Helv. **34**, 108 (1951).

⁷⁾ Trennung mit Butanol als mobile Phase, E. Schenker, A. Hunger & T. Reichstein, spätere Mitteilung.

⁸⁾ H. Hegedüs, Ch. Tamm & T. Reichstein, Helv. **36**, 357 (1953).

⁹⁾ J. v. Euw & T. Reichstein, Helv. **33**, 485 (1950).

Die Chloroform-Alkohol-(2:1)-Extrakte gaben beim Eindampfen 17,98 g Rückstand, als hellbraunes, bitteres Harz.

Die nach obigem Ausschütteln verbliebene wässrige Phase und das erste Wasser wurde im Vakuum auf 150 cm³ eingengt, mit 100 g festem wasserfreiem Na₂SO₄ versetzt und elfmal mit je 500 cm³ Chloroform-Alkohol (3:2) ausgeschüttelt. Diese Auszüge wurden der Reihe nach mit je 10 cm³ $\frac{3}{4}$ gesättigter wässriger Na₂SO₄-Lösung, 10 cm³ derselben Lösung, die 1,72 g Na₂CO₃ enthielt und nochmals 10 cm³ solcher Lösung ohne weiteren Zusatz gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet und eingedampft. Erhalten wurden 24,5 g Rückstand als braunes Harz, das kaum bitter schmeckte, aber noch eine positive *Raymond*-Reaktion gab. Eine Probe der verbliebenen wässrigen Phase wurde mit der fünffachen Menge abs. Alkohol versetzt. Das eingedampfte Filtrat gab mit *Raymond*-Reagens nur eine schwache Blaufärbung.

Weitere 1,7 kg Samen wurden genau gleich verarbeitet und gaben 47,2 g Chloroformextrakt, 28,3 g Chloroform-Alkohol-(2:1)-Extrakt und 47,0 g Chloroform-Alkohol-(3:2)-Extrakt. Die 47,2 g Chloroformextrakt lieferten hier 29,2 g rohes Acovenosid A vom Smp. 156–164°/211–225°, und noch 1,5 g vom Smp. 204–212°. Die verbliebenen Mutterlaugen (16,5 g Teil S₂) dienten zur Chromatographie.

Untersuchung des Chloroformextrakts.

Die 47,45 g rohes Acovenosid A aus beiden Ansätzen wurden zusammen nochmals aus Methanol und Methanol-Äther umkristallisiert und gaben 18,6 g reinstes Material vom Smp. 222–226° und 9,26 g wenig tiefer, bei 218–222° schmelzende Kristalle. (Total 27,86 g = 1% Acovenosid A). Von den Mutterlaugen¹⁾ wurden 8,97 g mit den Teilen S₁ und S₂ vereinigt und das Ganze im Vakuum bei 60° getrocknet. Dieses Material (28,35 g) diente für die folgenden Chromatographien.

Chromatographie der amorphen Anteile.

a) Erste Chromatographie. Von den genannten 28,35 g wurden zunächst 15 g an 500 g Al₂O₃ chromatographiert. Zum Eluieren jeder Fraktion dienten je 1000 cm³ der in Tab. V genannten Lösungsmittel.

Tabelle V.

Chromatographie von 15 g amorphen Anteilen aus Chloroform-Extrakt.

Fraktions-Nr.	Lösungsmittel	Eindampfrückstand	
		Menge in g	Habitus
1–3	Benzol-Chloroform (1:1)	0,702	amorph, ätherlöslich
4–5	Chloroform	0,197	amorph, ätherlöslich
6–7	Chloroform	2,943	Krist. vorwiegend Nr. 4
8–12	Chloroform	3,431	Krist. vorwiegend H
13–22	Chloroform-Methanol (99,5:0,5)–(98:2)	7,330	Krist. Gemisch A + H

Die amorphen Fraktionen 1–3 gaben bei der *Raymond*-Reaktion keine Färbung. Sie wurden nicht untersucht.

Die Fraktionen 6–7 gaben aus Methanol-Äther 1,92 g rohes „Kristallinat Nr. 4“ in Nadeldrusen, Smp. 234–247°.

Die Fraktionen 8–12 gaben aus Aceton-Äther 1,2 g rohes Acolongiflorosid H in Nadeldrusen, Smp. 240–250°. (Die Unterscheidung von „Kristallinat Nr. 4“ erfolgte hauptsächlich mit Hilfe der Farbreaktion mit 84-proz. H₂SO₄.)

Die Fraktionen 13–22 gaben aus Methanol-Äther 1,6 g rohes Acovenosid A vom Smp. 204–218°, das aber nach der Farbreaktion mit 84-proz. H₂SO₄ noch etwas Acolongiflorosid H enthielt.

¹⁾ Durch einen Unfall gingen 9 g verloren.

Aus den Mutterlaugen der Fraktionen 6–22 wurden zusammen noch ca. 5 g Kristallgemische erhalten, die auch nach mehrmaligem Umkristallisieren noch keine einheitlichen Stoffe gaben. Sie dienten für die dritte Chromatographie.

b) Zweite Chromatographie. In gleicher Weise wurden die restlichen 13,25 g amorphe Anteile aus Chloroformextrakt chromatographiert. Daraus wurden noch 1,26 g rohes „Kristallinat Nr. 4“, 0,8 g rohes Acolongiflorosid H und 0,7 g rohes Acovenosid A erhalten. Daneben wurden auch hier etwa 3 g nicht trennbare Kristallgemische gewonnen, die für die dritte Chromatographie benützt wurden.

Das rohe „Kristallinat Nr. 4“ aus beiden Chromatographien gab nach mehrmaligem Umkristallisieren aus Methanol-Äther 1,79 g zu Drusen vereinigten Nadeln, Smp. 253–260°.

Das rohe Acolongiflorosid H aus beiden Chromatographien gab aus Aceton 1,44 g farblose Stäbchen, Smp. 253–257°.

Das rohe Acovenosid A aus beiden Chromatographien gab aus Methanol 1,04 g Kristalle, Smp. 218–221°, die nach der Farbreaktion aber immer noch etwas Acolongiflorosid H enthielten.

c) Dritte Chromatographie. Die 8 g Kristallgemische aus der ersten und zweiten Chromatographie wurden nochmals an 250 g Al_2O_3 chromatographiert. Es konnten noch 1,38 g rohes Acolongiflorosid H vom Smp. 230–240° (diente für Spaltung) und 0,9 g „Kristallinat Nr. 4“ vom Smp. 240–255° (diente für Verteilungschromatographie) isoliert werden.

d) Weitere Chromatographien. Es wurden 1,38 g rohes Acolongiflorosid H nochmals an Al_2O_3 chromatographiert. Umkristallisieren aus Methanol-Äther gab 670 mg farblose Prismen vom Smp. 247–255° (diente für Analyse und Drehung).

In gleicher Weise wurden 1,88 g „Kristallinat Nr. 4“ an Al_2O_3 chromatographiert. Aus Aceton-Äther wurden 950 mg farblose Stäbchen vom Smp. 251–256° erhalten (dienten für Analyse und Drehung).

Trennung des Chloroform-Alkohol-(2:1)-Extrakts.

Isolierung von Ouabain. 5 g Extrakt (entspr. 292 g Samen) wurden an 150 g Al_2O_3 chromatographisch in 27 Fraktionen aufgeteilt. Zum Eluieren jeder Fraktion dienten 500 cm^3 Lösungsmittel.

Die Fraktionen 1–13, eluiert mit Chloroform-Methanol von 5–20% Methanolgehalt, lieferten 1,97 g amorphes Material. *Raymond*-Reaktion: positiv.

Die Fraktionen 14–21 (1,34 g, eluiert mit Chloroform-Methanol (4:1) und (1:1)) gaben aus Methanol-Äther 0,31 g rohes Ouabain, Smp. 183–190°.

Die Fraktionen 22–27, eluiert mit Methanol und Chloroform-Methanol (1:1) unter Zusatz von 0,5% Eisessig gaben insgesamt 344 mg amorphes Material. *Raymond*-Reaktion: positiv.

Isolierung von Acolongiflorosid-K-Acetat. Die Fraktionen 3–13, 22–25, sowie die Mutterlaugen der Fraktionen 14–21 (zusammen 3 g Material) wurden mit 60 cm^3 abs. Pyridin und 40 cm^3 Acetanhydrid 2 Tage bei 20° stengelassen.

Die übliche Aufarbeitung gab 3,33 g rohes Acetatgemisch. Aus Aceton-Äther 27 mg rohes Acolongiflorosid-K-Acetat, Smp. 283–288°. Die Mutterlauge (3,3 g) wurde an 100 g Al_2O_3 chromatographiert.

Die ersten 19 mit Benzol, Benzol-Chloroform und Chloroform eluierten Fraktionen gaben 2,92 g amorphes Material.

Die Fraktionen 21–22 (0,33 g, eluiert mit Chloroform-Methanol (98:2)) gaben aus Aceton-Äther noch 42 mg Acolongiflorosid-K-Acetat, Smp. 289–293°. Ausbeute total 67 mg.

Prüfung des Chloroform-Alkohol-(3:2)-Extrakts auf Ouabain.

4 g Extrakt wurden an 120 g Al_2O_3 chromatographiert. Zum Eluieren jeder Fraktion dienten 400 cm^2 Lösungsmittel.

Die Fraktionen 9–16 zeigten positive *Raymond*-Reaktion. Bei der Prüfung auf Ouabain im Papierchromatogramm (Butanol-Wasser) zeigte einzig Fraktion 13 an der

richtigen Stelle einen schwachen Fleck. Es konnten aber auch nach Impfen mit krist. Ouabain keine Kristalle erhalten werden. Total wurden 2,61 g amorphes Produkt erhalten, der Rest blieb auf der Säule.

Tabelle VI.

Chromatographie von 4 g Chloroform-Alkohol-(3:2)-Extrakt.

Fraktions-Nr.	Lösungsmittel	Eindampfrückstand	
		Menge in g	Raymond-Reaktion
1–4	Chloroform-Methanol (9:1)	—	—
5–8	Chloroform-Methanol (4:1)	0,600	negativ
9–12	Chloroform-Methanol (4:1)	0,328	positiv (schwach)
13–16	Chloroform-Methanol (1:1)	0,736	positiv
17–20	Chloroform-Methanol (1:1)	0,347	negativ
21–23	Chloroform-Methanol (1:1) + 1% Eisessig	0,600	negativ

Trennung von „Kristallinat Nr. 4“.

1,2 g „Kristallinat Nr. 4“ wurden in der kürzlich beschriebenen Weise¹⁾ durch Verteilungschromatographie getrennt. Es wurde Säule Nr. 2 verwendet, die mit 335 g gereinigter Kieselgur, die mit 335 g Wasser getränkt und in reinem Benzol suspendiert war, aufgebaut wurde. Die Höhe der Trägerschicht betrug nach gutem Pressen und zweitägigem Waschen mit Benzol 600 mm, Durchmesser 45 mm.

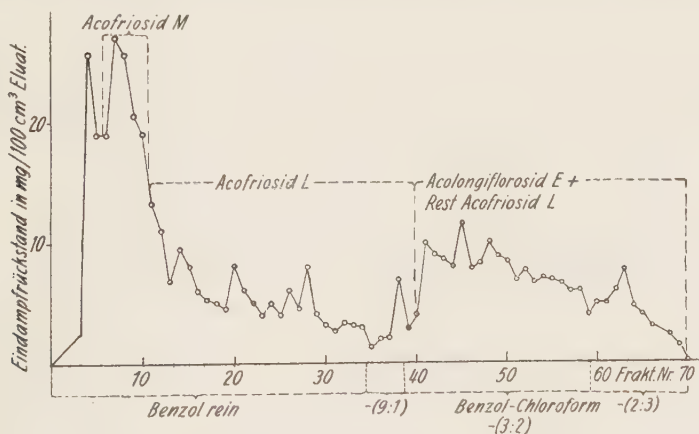


Fig. 3.

Verteilungschromatographie von 1,2 g „Kristallinat Nr. 4“.

Die 1,2 g „Kristallinat Nr. 4“ vom Smp. 240–255° wurden in 15 cm³ Chloroform gelöst mit 15 g gereinigter Kieselgur, die 15 g Wasser enthielt, gut vermischt und vom Chloroform im Vakuum befreit. Der Rückstand wurde mit 150 cm³ feuchtem Benzol geschüttelt, auf die Säule aufgetragen und gut gepresst. Dann wurde mit feuchtem Benzol und Benzol-Chloroform-Gemischen chromatographiert, wobei die Vorlage ca. alle 12 Std. gewechselt wurde. Für die ersten 30 Fraktionen betrug die Laufgeschwindigkeit ca. 180–200 cm³ pro 12 Std., später etwa 300 cm³. Der Verlauf der Trennung ist aus Fig. 3 ungefähr ersichtlich.

¹⁾ H. Hegedüs, Ch. Tamm & T. Reichstein, *Helv.* **36**, 357 (1953).

Die Fraktionen 1 und 2 gaben praktisch keinen Rückstand. Fraktion 3 gab nur eine Spur braunes Öl. Fraktion 4 gab 77 mg amorphes farbloses Material. Fraktion 5 (34 mg) gab aus Aceton-Äther 5 mg farblose Prismen, Smp. 239–249°. Farbreaktion mit 84-proz. H_2SO_4 : violett. Eventuell Acolongiflorosid H (nicht untersucht).

Die Fraktionen 7–10 (zusammen 156 mg) gaben aus Methanol-Äther 49 mg Acofriosid M, Doppel-Smp. 185°/224–233°.

Die Fraktion 11 (24 mg) war ein Gemisch.

Die Fraktionen 12–40 (zusammen 300 mg) gaben aus Methanol-Äther 75 mg reines Acofriosid L, Smp. 244–252°.

Die Fraktionen 41–66 (zusammen 565 mg) gaben aus Aceton zunächst 183 mg Acolongiflorosid E, feine Nadeln, Smp. 256–261°. Die Mutterlaugen gaben aus Methanol mit etwas Äther noch 40 mg Acofriosid L, Smp. 248–252°.

Acovenosid A aus Samen von *Acokanthera friesiorum*.

Aus Methanol-Äther farblose Stäbchen, Smp. 223–226°; $[\alpha]_D^{25} = -65,0^\circ \pm 2^\circ$ (c = 0,9832 in Aceton). Gewichtsverlust bei Trocknung 5,71; 5,43% (S.W., A.P.).

3,037 mg Subst. gaben 7,32 mg CO_2 und 2,31 mg H_2O (S.W.)

3,246 mg Subst. gaben 7,792 mg CO_2 und 2,488 mg H_2O (A.P.)

3,872 mg Subst. verbr. 2,063 cm^3 0,02-n. $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (Zeisel-Vieböck) (OAB)

$\text{C}_{30}\text{H}_{46}\text{O}_9$	Ber. C 65,43	H 8,42	$-\text{OCH}_3$ 5,64%
(550,67)	Gef. „ 65,77; 65,51	„ 8,51; 8,57	„ 5,51%

Authentisches Vergleichsmaterial sowie die Mischprobe schmolzen gleich, auch die Farbreaktionen mit 84-proz. H_2SO_4 waren gleich. Das Präparat gab im Papierchromatogramm (Formamid und Chloroform-Benzol (5:7)) nur einen Fleck, Laufstrecke nach 18 Std. ca. 21 cm.

Acetat. 30 mg, wie üblich acetyliert, gaben 32 mg rohes Acetat. Aus Aceton-Äther farblose Nadeln, Smp. 232–234°, Mischprobe ebenso.

„Kristallinat Nr. 4“. Aus Methanol-Äther Drusen feiner Nadeln. Aus Aceton-Äther kurze Prismen, Smp. 251–256°; $[\alpha]_D^{20} = -49,4^\circ \pm 2^\circ$ (c = 1,025 in Methanol).

10,25 mg Subst. zu 1,001 cm^3 ; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{20} = -0,507^\circ \pm 0,02^\circ$

Gewichtsverlust bei Trocknung (12 Std.) 2,38; 4,21% (OAB)

3,564 (4,167) mg Subst. gaben 8,620 (9,975) mg CO_2 und 2,837 (3,177) mg H_2O (OAB)

2,800 mg Subst. verbr. 1,608 cm^3 0,02-n. $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (Zeisel-Vieböck) (OAB)

5,202 mg Subst. verbr. 0,01 cm^3 0,01-n. NaOH (Acetylbest.)¹⁾ (S.W.)

9,282 mg Subst. verbr. 0,434 cm^3 H_2 (725 Torr, 23,5°) (Hydrierung)²⁾ (A.P.)

$\text{C}_{30}\text{H}_{46}\text{O}_9$	Ber. C 65,43	H 8,42	$-\text{OCH}_3$ 5,63	$\text{CH}_3\text{CO}-$ 0%	DZ = 1
(550,67)	Gef. „ 66,02; 65,33	„ 8,91; 8,53	„ 5,94	„ 0%	„ = 1

Legal-Reaktion: positiv (rot), Raymond-Reaktion: positiv (blau), Keller-Kiliani-Reaktion: negativ, Tetranitromethanprobe: schwach positiv. Das Kristallinat war leicht löslich in Methanol, schwerer in Aceton, sehr schwer in Äther. Färbung mit 84-proz. H_2SO_4 : lila-rot (1–10 Min.), tief lila (60 Min.), grün (5 Std.). UV.-Absorptionsspektren siehe theoret. Teil. Auf Formamid-Papier wurde bei üblicher Ausführung nur ein Fleck erhalten, Laufstrecke mit Benzol-Chloroform (7:5) nach 23 Std. ca. 27 cm. Eine sehr ähnliche Laufstrecke zeigten sowohl Acofriosid L wie Acolongiflorosid E. Nach Vorbehandlung des Papiers mit „Quilon“³⁾ und anschließender Tränkung mit 25-proz. Lösung

¹⁾ Mit saurer Verseifung nach Freudenberg-Weber in Ausführungsform von E. Wiesenberger, Mikrochemie **30**, 241 (1942).

²⁾ 6 Std. hydriert mit Pt in Eisessig. Es wurde nur 1 Mol H_2 rasch aufgenommen.

³⁾ „Quilon“ ist ein Stearat-Chromchlorid-Komplex der Firma E. J. Dupont de Nemours, Wilmington, Delaware (wir danken auch hier der genannten Firma für die Überlassung einer Probe), der zuerst von D. Kritchewsky & M. R. Kirk, Arch. Biochem. & Biophys. **35**, 346 (1952), für die papierchromatographische Trennung von Steroiden verwendet wurde.

von Formamid in Aceton wurden aber 2 Flecke erhalten, von denen der rascher wandernde mit Acolongiflorosid E identisch war.

Acofriosid L. Dieses aus „Kristallinat Nr. 4“ durch Verteilungschromatographie abgetrennte Glykosid kristallisierte aus viel Methanol in Prismen, Smp. 248–253°; $[\alpha]_D^{17} = -54,1^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 0,991$ in Methanol).

9,97 mg Subst. zu 1,006 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{17} = -0,536^\circ \pm 0,02^\circ$

Gewichtsverlust bei Trocknung 2,65% (A. P.)

4,222 mg Subst. gaben 10,443 mg CO₂ und 3,105 mg H₂O (A. P.)

C₃₀H₄₄O₈ (532,65) Ber. C 67,64 H 8,33% Gef. C 67,50 H 8,23%

Keller-Kiliani-Reaktion: negativ. Tetranitromethanprobe deutlich positiv. Farbreaktion mit 84-proz. H₂SO₄: lila-rot (1–10 Min.), lila (30 Min.), violett (1 Std.), blaugrau (2 Std.). Im Chromatogramm auf Formamid-Papier wurde nur ein Fleck erhalten. Laufstrecke nach 18 Std. mit Benzol-Chloroform (7:5) ca. 27 cm. UV.-Absorptionsspektrum siehe Fig. 2, Kurve I, im theoret. Teil.

Acofriosid-L-Acetat. a) Aus „Kristallinat Nr. 4“. 80 mg „Kristallinat Nr. 4“ vom Smp. 251–256° wurden in 1,2 cm³ abs. Pyridin und 1,2 cm³ Acetanhydrid 48 Std. bei 20° stehengelassen. Übliche Aufarbeitung gab 120 mg Rohprodukt, das an 3,7 g Al₂O₃ chromatographiert wurde. Die Fraktionen 6–11 (67 mg, eluiert mit Benzol-Chloroform (4:1)) gaben aus Aceton-Äther 19 mg feine Nadeln, Smp. 230–233°; $[\alpha]_D^{19} = -32,8^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 0,925$ in Aceton).

9,30 mg Subst. zu 1,006 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{19} = -0,303^\circ \pm 0,02^\circ$

Gewichtsverlust bei Trocknung 2,96% (A. P.)

3,701 mg Subst. gaben 8,701 mg CO₂ und 2,531 mg H₂O (A. P.)¹⁾

C₃₄H₅₀O₁₁ (634,74) Ber. C 64,33 H 7,94% Gef. C 64,22 H 7,65%

Farbreaktion mit 84-proz. H₂SO₄: rot-lila (1–30 Min.), lila (75 Min.), violett (2 Std.).

b) Aus reinem Acofriosid L. 20 mg Acofriosid L vom Smp. 248–253° (aus Verteilungschromatographie isoliert) in 1 cm³ abs. Pyridin und 1 cm³ Acetanhydrid 48 Std. bei 20° stehengelassen. Übliche Aufarbeitung gab 27 mg Rohprodukt. Aus Aceton-Äther 10 mg feine Nadeln, Smp. 225–230°; $[\alpha]_D^{25} = -35,8^\circ \pm 3^\circ$ ($c = 0,7365$ in Aceton).

7,41 mg Subst. zu 1,006 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{25} = -0,263^\circ \pm 0,02^\circ$

Gewichtsverlust bei Trocknung 1,89% (A. P.)

4,145 mg Subst. gaben 10,020 mg CO₂ und 2,851 mg H₂O (A. P.)

C₃₄H₄₈O₁₀ (616,72) Ber. C 66,21 H 7,84% Gef. C 65,97 H 7,70%

Tetranitromethan-Probe: positiv (hellgelb), Farbreaktion mit 84-proz. H₂SO₄ genau wie Präparat a), Mischprobe ebenso.

Dehydrierungsversuch. 20 mg Acofriosid-L-Acetat vom Smp. 230–233° in 1 cm³ reinstem Eisessig mit 0,22 cm³ 2-proz. CrO₃-Eisessig-Lösung (entspr. 4,4 mg CrO₃) versetzt und 6 Std. bei 18° stehengelassen, worauf noch CrO₃ nachweisbar war. Es wurde mit 0,1 cm³ Methanol versetzt und noch 8 Std. stehengelassen. Übliche Aufarbeitung gab 19 mg neutrales Rohprodukt. Aus Aceton-Äther 8 mg Nadeln, Smp. 229–240°. Misch-Smp. mit dem Ausgangsmaterial ohne Erniedrigung.

Acofriosid M. Aus Methanol-Äther Stäbchen mit Doppel-Smp. 185°/224–233°; $[\alpha]_D^{25} = -54,5^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 0,976$ in Methanol).

9,90 mg Subst. zu 1,0145 cm³; $l = 1$ dm; $[\alpha]_D^{25} = -0,531^\circ \pm 0,02^\circ$

Gewichtsverlust bei Trocknung: 0,54 und 0,71% (A. P.)

4,602 mg Subst. gaben 10,710 mg CO₂ und 3,335 mg H₂O (A. P.)

3,889 mg Subst. verbr. 1,945 cm³ 0,02-n. Na₂S₂O₃ (Zeisel-Vieböck) (A. P.)

C₃₀H₄₆O₁₀ Ber. C 63,58 H 8,18 –OCH₃ 5,48%
(566,67) Gef. „ 63,51 „ 8,11 „ 5,17%

¹⁾ Wahrscheinlich Analysenfehler, siehe abweichendes Resultat bei b).

Raymond-Reaktion: positiv (blau); *Keller-Kiliani*-Reaktion: negativ; Zuckerprüfung: positiv; Tetranitromethan-Probe: negativ; Farbreaktion mit 84-proz. H_2SO_4 : lila (1 Min.), gelb-orange (5 Min.), dunkelgelb (30 Min.), gelb mit grüner Fluoreszenz (1–24 Std.). Eine ähnliche Färbung mit Fluoreszenz zeigten Anhydroperiplogenon¹⁾ sowie Substanz D aus *A. longiflora*¹⁾. Im Chromatogramm auf Formamid-Papier gab der Stoff nur einen Fleck, der fast dieselbe Laufstrecke zeigte wie Acovenosid A. UV.-Absorptionsspektrum vgl. Kurve M in Fig. 1, theoret. Teil. Der Stoff war ziemlich schwer löslich in Aceton und Methanol, leichter in Chloroform.

Acetat. 22 mg Acofriosid M vom Smp. 222–230° in 0,6 cm³ abs. Pyridin und 0,4 cm³ Acetanhydrid 48 Std. bei 20° stehengelassen. Übliche Aufarbeitung gab 24 mg rohes Acetat, das bisher nicht kristallisierte.

Acolongiflorosid E aus *Acokanthera friesiorum*.

Die aus „Kristallinat Nr. 4“ einerseits durch Verteilungschromatographie, andererseits nach Behandlung mit HCl in Aceton (siehe weiter unten) erhaltenen Präparate waren nach Smp., Mischprobe und Farbreaktionen identisch. Das letztgenannte Präparat gab aus viel Aceton feine Nadeln, Smp. 261–264°; $[\alpha]_D^{18} = -34,7^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 0,930$ in Methanol). Gewichtsverlust bei Trocknung 4,54% (OAB).

3,869 mg Subst. gaben 9,550 mg CO_2 und 2,929 mg H_2O (OAB)

$\text{C}_{30}\text{H}_{44}\text{O}_8$ (532,65) Ber. C 67,64 H 8,33% Gef. C 67,36 H 8,47%

Farbreaktion mit 84-proz. H_2SO_4 : gelb (1–10 Min.), blass gelb (80 Min.). Authentisches Acolongiflorosid E¹⁾ sowie die Mischprobe schmolzen gleich. Der Stoff war leicht löslich in Chloroform und Methanol, schwerer in Aceton, schwer in Äther.

Acetat. 24 mg Acolongiflorosid E (obiges Präparat) vom Smp. 261–264° in 0,6 cm³ abs. Pyridin und 0,4 cm³ Acetanhydrid 48 Std. bei 20° stehengelassen. Übliche Aufarbeitung gab 31 mg rohes Acetat. Aus Aceton-Äther, dann aus Methanol-Äther 20 mg feine Nadeln, Smp. 248–252°; $[\alpha]_D^{18} = -22,1^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,201$ in Chloroform).

Authentisches Acolongiflorosid-E-Acetat¹⁾ und die Mischprobe schmolzen gleich, auch die Farbreaktionen waren gleich, ebenso die IR.-Absorptionsspektren²⁾.

Acolongiflorosid H aus *Acokanthera friesiorum*.

Das hier isolierte Material gab nach mehrmaligem Umkristallisieren aus Methanol-Äther ein Präparat folgender Eigenschaften, das für die weiteren Umsetzungen benützt wurde: farblose Prismen, Smp. 249–255°; $[\alpha]_D^{20} = -42,8^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,074$ in Methanol). Gewichtsverlust bei Trocknung 1,9% (OAB).

3,567 mg Subst. gaben 8,614 mg CO_2 und 2,668 mg H_2O (OAB)

5,538 mg Subst. verbr. 3,094 cm³ 0,02-n. $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (*Zeisel-Vieböck*) (OAB)

4,641 mg Subst. verbr. 0,02 cm³ 0,01-n. NaOH (Acetylbest.)³⁾ (*S. W.*)

8,976 mg Subst. verbr. 0,820 cm³ H_2 (728 Torr, 24,4°) (Hydrierung)⁴⁾ (*A. P.*)

$\text{C}_{30}\text{H}_{44}\text{O}_9$ Ber. C 65,67 H 8,08 $-\text{OCH}_3$ 5,66 $-\text{COCH}_3$ 0% DZ = 2

(548,65) Gef. „ 65,80 „ 8,36 „ 5,73 „ 0,18% „ = 1,97

Farbreaktion mit 84-proz. H_2SO_4 : tief violett (1 Min.), blau-violett (10 Min.), blau (30–60 Min.). Tetranitromethan-Probe: schwach positiv. Misch-Smp. mit dem alten Präparat¹⁾ 236–246°. Die Farbreaktionen waren gleich. Im Chromatogramm auf Formamid-Papier gab das Präparat nur einen Fleck. Laufstrecke nach 18 Std. mit Benzol-Chloroform

¹⁾ *H. Helfenberger & T. Reichstein*, *Helv.* **35**, 1503 (1952).

²⁾ Wir danken den Herren Dr. *H. M. E. Cardwell* und Dr. *D. F. B. Strauss*, Oxford, für die Bestimmung dieser Spektren und die Übermittlung ihrer Resultate.

³⁾ Saure Verseifung nach *Freudenberg-Weber* in Ausführungsform von *E. Wiesenberger*, *Mikrochem.* **30**, 241 (1942).

⁴⁾ Hydrierung mit Pt in Eisessig während 5½–6 Std. Ein Mol. H_2 wurde fast sofort aufgenommen, das zweite nach 3½ Std.; von da an blieb das Volumen konstant.

(7:5) ca. 7 cm. Das alte Präparat¹⁾ zeigte die gleiche Laufstrecke. Acolongiflorosid G, das in dem hier beschriebenen Präparat noch in merklichen Mengen enthalten war, zeigte eine um wenig raschere Laufgeschwindigkeit.

Acetat. 30 mg Acolongiflorosid H (Smp. 247–253°) in 0,6 cm³ abs. Pyridin und 0,4 cm³ Acetanhydrid 48 Std. bei 18° stehengelassen. Übliche Aufarbeitung gab 38 mg Rohprodukt, die an 1,1 g Al₂O₃ chromatographiert wurden. Die Fraktionen 4–11 (30 mg. eluiert mit Benzol-Chloroform (4:1)) gaben aus Aceton-Äther 20 mg Stäbchen, Smp. 209–215°; $[\alpha]_D^{20} = -34,4^{\circ} \pm 3^{\circ}$ ($c = 0,815$ in Aceton).

Die Tetranitromethan-Probe war positiv. Die Mischprobe mit authentischem Acolongiflorosid-H-Acetat schmolz gleich, auch die Farbreaktion mit 84-proz. H₂SO₄ war gleich.

Dehydrierungsversuch. 20 mg Acolongiflorosid-H-Acetat vom Smp. 205–214° in 1 cm³ reinstem Eisessig mit 0,11 cm³ 2-proz. CrO₃-Eisessig-Lösung (entspr. 2,16 mg CrO₃) versetzt und bei 20° stehengelassen. Nach 2½ Std. war das CrO₃ verbraucht. Es wurden nochmals 0,11 cm³ derselben Lösung zugegeben und dies nach 7 Std. noch einmal wiederholt. Nach weiteren 6½ Std. war noch CrO₃ nachweisbar. Es wurde mit 0,2 cm³ Methanol versetzt und 10 Std. stehengelassen. Die übliche Aufarbeitung gab 1,8 mg saure und 18 mg neutrale Anteile. Letztere wurden an 0,5 g Al₂O₃ chromatographiert. Die mit Benzol-Chloroform (4:1) und (3:2) eluierten Anteile (15 mg) gaben aus Aceton-Äther 5 mg Stäbchen, Smp. 206–216°. Misch-Smp. mit Acolongiflorosid-H-Acetat 205–216°.

Ouabain aus *Acokanthera friesiorum*. Aus Methanol-Äther farblose Nadeln, Smp. 183–187°; $[\alpha]_D^{20} = -44,3^{\circ} \pm 2^{\circ}$ ($c = 0,929$ in Methanol). Authentisches Ouabain aus Strophanthus gratus zeigte Smp. 187–197°; $[\alpha]_D^{20} = -41,3^{\circ} \pm 2^{\circ}$ ($c = 0,9225$ in Methanol). Die Mischprobe schmolz gleich. Beide Präparate zeigten mit 84-proz. H₂SO₄ folgende Färbungen: farblos (1 Min.), blass braun (10–30 Min.), und im Papierchromatogramm im System n-Butanol-Wasser nach 24 Std. gleiche Laufstrecken (7 cm), wobei nur ein Fleck erhalten wurde.

Acetat. 110 mg Ouabain (obiges Präparat, Smp. 183–187°) in 1,5 cm³ abs. Pyridin und 1 cm³ Acetanhydrid 2 Tage bei 20° stehengelassen. Übliche Aufarbeitung gab 130 mg Rohprodukt. Aus Aceton-Äther langsam 40 mg Kristalle. Umkristallisieren aus Aceton-Äther gab zu Rosetten angeordnete stumpfe Prismen, Smp. 285–294°; $[\alpha]_D^{18} = -39,6^{\circ} \pm 2^{\circ}$ ($c = 1,180$ in Chloroform). Gewichtsverlust bei Trocknung 0,178% (OAB).

3,930 mg Subst. gaben 8,430 mg CO₂ und 2,320 mg H₂O (OAB)

C₄₁H₅₆O₁₈ (836,86) Ber. C 58,85 H 6,75% Gef. C 58,54 H 6,61%

Färbung mit 84-proz. H₂SO₄: farblos (1 Min.), blass braun (10–30 Min.).

Authentisches Ouabain gab bei gleicher Acetylierungsart auch immer nur eine schlechte Ausbeute an krist. Hexacetat. Mischprobe und Farbreaktionen gleich.

Acolongiflorosid-K-Acetat aus *Acokanthera friesiorum*

Aus Aceton-Äther, dann aus Methanol-Äther farblose Nadeln, Smp. 293–295° (Zers., Braunfärbung); $[\alpha]_D^{18} = -40,5^{\circ} \pm 2^{\circ}$ ($c = 1,049$ in Chloroform). Kein Gewichtsverlust bei Trocknung (OAB).

2,570 mg Subst. gaben 5,660 mg CO₂ und 1,695 mg H₂O (OAB)

C₄₁H₅₆O₁₈ (836,86) Ber. C 58,85 H 6,74% Gef. C 60,10 H 7,38%

UV.-Absorptionsspektrum vgl. Kurve K, theoret. Teil.

Das Präparat gab mit 84-proz. H₂SO₄ keine Färbung, authentisches Acolongiflorosid-K-Acetat verhielt sich gleich, Misch-Smp. ohne Erniedrigung.

Acolongiflorosid G aus *Acokanthera friesiorum*.

Dieses Präparat wurde nur als Nebenprodukt bei der Spaltung von Acolongiflorosid H, das nicht rein war, mit HCl in Aceton (siehe unten) erhalten.

Aus Aceton-Äther, dann aus Methanol-Äther farblose Stäbchen, Smp. 265–268°; $[\alpha]_D^{19} = -19,8^\circ \pm 3^\circ$ ($c = 0,821$ in Methanol). Gewichtsverlust bei Trocknung 5,3% (S. W.), 4,19% (A. P.).

3,793 mg Subst. gaben 9,110 mg CO₂ und 2,908 mg H₂O (A. P.)

3,201 mg Subst. verbr. 0,05 cm³ 0,01-n. NaOH (Acetylbest.¹⁾) (S. W.)

C ₃₀ H ₄₆ O ₉	Ber. C 65,43	H 8,42	–COCH ₃ 0%
(550,67)	Gef. „ 65,54	„ 8,58	„ 0%

Zuckernachweis: positiv. Farbreaktionen und Misch-Smp. gleich wie bei authentischem Acolongiflorosid G¹). Im Papierchromatogramm auf Formamid mit Benzol-Chloroform (7:5) zeigten beide Präparate auch gleiche Laufstrecken, 15 cm nach 20 Std.

Acetat. 25 mg Acolongiflorosid G (obiges Präparat) wie üblich acetyliert, gaben 30 mg Rohprodukt. Aus Aceton-Äther 23 mg Büschel feiner Nadeln, Smp. 246–251°; $[\alpha]_D^{15} = -7,1^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,09$ in Aceton). Gewichtsverlust bei Trocknung 0,45% (A. P.).

4,431 mg Subst. gaben 10,360 mg CO₂ und 3,096 mg H₂O (A. P.)

C ₃₆ H ₅₂ O ₁₂ (676,78)	Ber. C 63,89	H 7,74%	Gef. C 63,80	H 7,82%
--	--------------	---------	--------------	---------

Farbreaktion mit 84-proz. H₂SO₄: blass rotbraun (1 Min.), rotbraun (30 Min.), blass braun (60 Min.). Authentisches Acolongiflorosid-G-Acetat¹) zeigte dieselbe Färbung, die Mischprobe schmolz gleich.

Spaltung von „Kristallisat Nr. 4“ mit HCl in Aceton.

300 mg „Kristallisat Nr. 4“ vom Smp. 251–256° wurden in 30 cm³ Aceton gelöst, mit 0,3 cm³ konz. HCl versetzt und 10 Tage im Dunkeln bei 18° stehengelassen. Die klare gelbe Lösung wurde hierauf mit 30 cm³ Wasser versetzt, im Vakuum bei 20° auf 30 cm³ eingengt, mit 30 cm³ Methanol versetzt und 25 Min. unter Rückfluss gekocht. Dann wurde abgekühlt und im Vakuum bei 25° auf 25 cm³ eingengt, wobei Flocken ausfielen. Es wurde viermal mit je 150 cm³ Chloroform ausgeschüttelt. Die mit Wasser, Sodalösung und Wasser gewaschenen und über Na₂SO₄ getrockneten Auszüge gaben beim Eindampfen 264 mg Chloroformextrakt als hellgelben Schaum.

Die wässrige Phase und das erste Waschwasser wurden im Vakuum bei 50° auf 10 cm³ eingengt und 1 Std. auf 80° erwärmt. Dann wurde abgekühlt, mit Ag₂CO₃ neutralisiert und durch ein mit Ag₂CO₃ gedichtetes Filter genutscht. Das klare Filtrat wurde bei 0° kurz mit H₂S behandelt und dann durch eine Spur gewaschener Kohle filtriert. Das farblose Filtrat gab beim Eindampfen im Vakuum einen fast farblosen Zuckersirup. Es wurde in Methanol aufgenommen, mit Aceton versetzt und durch Filtration von Flocken befreit. Das Filtrat wurde eingedampft und der im Vakuum getrocknete Rückstand in trockenem Aceton aufgenommen. Die erneut filtrierte Lösung gab beim Eindampfen 86 mg rohe Acofriose als hellgelben Sirup, der nach einigem Stehen über CaCl₂ kristallisierte (Beschreibung siehe weiter unten).

In gleicher Weise wurden nochmals 440 mg „Kristallisat Nr. 4“ gespalten und lieferten 90 mg Zuckersirup sowie 386 mg chloroformlösliche Anteile.

Untersuchung der chloroformlöslichen Anteile. Die 264 mg Chloroformextrakt aus der Spaltung von „Kristallisat Nr. 4“ gaben aus Methanol-Äther etwas Kristalle, die sich aber schlecht reinigen liessen. Daher wurde die ganze Menge an 8 g Al₂O₃ chromatographiert. Zum Eluieren jeder Fraktion dienten je 30 cm³ der in Tab. VII angegebenen Lösungsmittel.

Die Fraktionen 2–10 gaben aus Methanol 65 mg rohes 3,5-Dianhydro-periplogenin (VI) in farblosen Plättchen, Smp. 185–201°.

Die Fraktionen 13–17 gaben aus Methanol-Äther 5 mg Kristallgemische (Stäbchen). Smp. ca. 225–255°, die nicht weiter untersucht wurden.

Die Fraktion 18 gab aus Aceton 48 mg Acolongiflorosid E in feinen Nadeln, Smp. 250–256°, Zuckernachweis: positiv. Nach Smp., Drehung und IR.-Absorptionsspektrum identisch mit authentischem Acolongiflorosid E¹) (siehe weiter oben).

¹⁾ Nach saurer Verseifung nach *Freudenberg-Weber* in Ausführungsform von *E. Wiesenberger*, Mikrochemie **30**, 241 (1942).

Tabelle VII.

Chromatographie der chloroformlöslichen Anteile aus der Spaltung von „Kristallisat Nr. 4“.

Fraktions-Nr.	Lösungsmittel	Eindampfdruckstand	
		Menge in mg	Habitus, bei Kristallen Smp. und Form
1	Benzol-Chloroform (9:1)	—	—
2	Benzol-Chloroform (9:1)	10	teilw. Krist. 170—190°
3	Benzol-Chloroform (4:1)	21	Plättchen, 183—212°
4	Benzol-Chloroform (4:1)	35	Plättchen, 183—212°
5	Benzol-Chloroform (4:1)	17	Plättchen, 183—212°
6	Benzol-Chloroform (4:1)	6	Plättchen, 188—206°
7	Benzol-Chloroform (4:1)	3	Plättchen, 188—206°
8	Benzol-Chloroform (3:2)	6	Plättchen, 188—209°
9	Benzol-Chloroform (3:2)	4	Plättchen, 188—209°
10	Benzol-Chloroform (3:2)	3	Plättchen, 184—210°
11	Benzol-Chloroform (3:2)	3	—
12	Benzol-Chloroform (3:2)	3	—
13	Benzol-Chloroform (2:3)	4	Stäbchen, 220—256°
14	Benzol-Chloroform (2:3)	4	Stäbchen, 220—256°
15	Benzol-Chloroform (2:3)	Spur	Stäbchen, 220—256°
16	Chloroform	Spur	Stäbchen, 220—255°
17	Chloroform	Spur	Stäbchen, 220—255°
18	Chloroform-Methanol (98:2)	100	Nadeln, 250—263°
19	Chloroform-Methanol (98:2)	Spur	—
20—21	Chloroform-Methanol (9:1)	Spur	—
22	Chloroform-Methanol (4:1)	Spur	—

3,5-Dianhydro-periplogenin (VI) aus obiger Spaltung.

Die 65 mg Rohkristalle gaben nach mehrmaligem Umkristallisieren aus Methanol 45 mg Plättchen, Smp. 188—207°; $[\alpha]_D^{22} = -46,8^\circ \pm 3^\circ$ ($c = 0,896$ in Chloroform).

9,02 mg Subst. zu $1,006 \text{ cm}^3$; $l = 1 \text{ dm}$; $\alpha_D^{22} = -0,42^\circ \pm 0,02^\circ$

Gewichtsverlust bei Trocknung 0,32% (*A. P.*)

4,352 mg Subst. gaben 12,390 mg CO_2 und 3,410 mg H_2O (*A. P.*)

$\text{C}_{23}\text{H}_{36}\text{O}_3$ (354,47) Ber. C 77,80 H 8,58% Gef. C 77,69 H 8,77%

Die Substanz war schwer löslich in Methanol, leichter in Aceton und Chloroform. *Raymond*-Reaktion: positiv (violett); Zuckerprüfung: negativ; Tetranitromethan-Probe: stark positiv (dunkelgelb); Farbreaktion mit 84-proz. H_2SO_4 : karminrot (1 Min.), tief lila (20 Min.), violett (90 Min.). UV.-Absorptionsspektrum siehe Kurve VI, theoret. Teil. Der Stoff blieb im Acetylierungsversuch mit Acetanhydrid-Pyridin, 48 Std. bei 20°, unverändert.

Spaltung von Acolongiflorosid H mit HCl in Aceton.

1,83 g Acolongiflorosid H (aus *Acokanthera friesiorum*), Smp. 235—245° wurden in 200 cm^3 Aceton gelöst, mit $2,0 \text{ cm}^3$ konz. HCl versetzt und in evakuierter Ampulle eingeschmolzen 10 Tage bei 18° stehengelassen. Aufarbeitung wie bei Spaltung von „Kristallisat Nr. 4“ gab 0,500 g acetonlöslichen Zuckersirup und 1,46 g Chloroformextrakt. Untersuchung des Zuckers siehe weiter unten.

Die 1,46 g Chloroformextrakt wurden an 40 g Al_2O_3 chromatographiert. Zum Eluieren jeder Fraktion dienten je 150 cm^3 der in Tab. VIII genannten Lösungsmittel.

Tabelle VIII.

Fraktions-Nr.	Lösungsmittel	Eindampfdruckstand	
		Menge in mg	Habitus bei Kristallen Smp.
1	Benzol-Chloroform (80:20)	—	
2—5	Benzol-Chloroform (80:20)	7	amorph, gelb
6—12	Benzol-Chloroform (60:40)	16	amorph, gelb
13—19	Benzol-Chloroform (40:60)	180	amorph, farblos
20—23	Chloroform	19	amorph, farblos
24	Chloroform-Methanol (98:2)	366	Krist. 197—204°
25	Chloroform-Methanol (98:2)	177	Krist. 197—204°
26	Chloroform-Methanol (98:2)	46	amorph
27	Chloroform-Methanol (98:2)	39	amorph
28—34	Chloroform-Methanol (90:10)	265	amorph

Bisher gaben einzig die Fraktionen 24—25 Kristalle. Sie lieferten aus Aceton-Äther zunächst 52 mg rohes Genin H. M. 15 in Nadeln, Smp. 197—204°. Die Mutterlauge lieferte aus Aceton-Äther 69 mg rohes Acolongiflorosid G in farblosen Prismen, Smp. 262—268°, Zuckerprüfung: positiv.

Die Mutterlaugen der Fraktionen 24—25 wurden mit den amorphen Fraktionen 26—34 vereinigt und das Ganze (704 mg) nochmals an 35 g Al_2O_3 chromatographiert, worauf sich nochmals 40 mg Genin H. M. 15 isolieren liessen, Totalausbeute 92 mg. Der Rest des Materials kristallisierte nicht.

Genin H. M. 15. Aus Aceton-Äther, dann aus Methanol Nadeln, Smp. 190—200°; $[\alpha]_D^{21} = +83,6^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,05$ in Methanol).

10,55 mg Subst. zu 1,006 cm^3 ; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{21} = +0,879^\circ \pm 0,02^\circ$

Gewichtsverlust bei Trocknung 0% (OAB), 0,36% (A. P.)

4,688 mg Subst. gaben 11,710 mg CO_2 und 3,364 mg H_2O (OAB)

3,071 mg Subst. gaben 7,684 mg CO_2 und 2,291 mg H_2O (A. P.)

$\text{C}_{23}\text{H}_{32}\text{O}_6$ (404,49) Ber. C 68,29 H 7,97% Gef. C 68,16; 68,28 H 8,03; 8,35%

Raymond-Reaktion: positiv (blau); Zuckerprüfung: negativ; Tetranitromethanprobe: schwach, nicht eindeutig positiv. Farbreaktion mit 84-proz. H_2SO_4 : grün (1—30 Min.), blassgrün (1 Std.). UV.-Absorptionsspektrum siehe Fig. 1, Kurve X, theoret. Teil. Der Stoff war leicht löslich in Chloroform, schwerer in Methanol und Aceton, schwer löslich in Äther.

Acetat. 24 mg Genin H. M. 15 wurden in 0,4 cm^3 abs. Pyridin und 0,3 cm^3 Acetanhydrid 2 Tage bei 20° stehengelassen. Die übliche Aufarbeitung gab 33 mg Rohprodukt, das bisher nicht kristallisierte. Tetranitromethanprobe negativ.

L-Acofriose (V). a) Aus „Kristallisat Nr. 4“. Die 86 mg Zuckersirup gaben aus wenig Aceton-Äther 46 mg krist. Acofriose in Nadeln vom Smp. 110—117°. Einmaliges Umkristallisieren gab analysenreines Material, Smp. 111—114°; $[\alpha]_D^{22} = +38,0^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,133$ in Wasser) nach 18 Std. (keine sichtbare Mutarotation).

11,26 mg Subst. zu 0,9935 cm^3 ; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{22} = +0,435^\circ \pm 0,02^\circ$

b) Aus Acolongiflorosid H. Die 483 mg roher Zuckersirup gaben aus Aceton-Äther 445 mg krist. Acofriose, Smp. 111—114°. Umkristallisieren gab Nadeln, Smp. 113—115°; $[\alpha]_D^{25} = +39,1^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,224$ in Wasser nach 18 Std.).

12,18 mg Subst. zu 0,9935 cm^3 ; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{15} = +0,478^\circ \pm 0,02^\circ$

Zur Analyse wurde 24 Std. bei 0,01 Torr und 25° über P_2O_5 getrocknet, Einwaage im Schweinchen, Gewichtsverlust 0,57% (OAB).

3,993 mg Subst. gaben 6,880 mg CO_2 und 2,810 mg H_2O (OAB)

6,169 mg Subst. verbr. 10,574 cm³ 0,02-n. $Na_2S_2O_3$ (Zeisel-Vieböck) (OAB)

$C_7H_{14}O_5$ Ber. C 47,18 H 7,92 $-OCH_3$ 17,40%

(178,18) Gef. „ 47,02 „ 7,87 „ 17,73%

Die Mischprobe mit Präparat aus Versuch a) schmolz gleich.

3,5-Dianhydro-periplogenin (VI) aus Periplogenin (III).

200 mg Periplogenin (III)¹⁾ vom Smp. 215–225° wurden durch Abdampfen mit Toluol im Vakuum getrocknet, in 4 cm³ abs. Pyridin gelöst bei 0° mit 300 mg frisch gereinigtem²⁾ p-Toluolsulfochlorid versetzt und 42 Std. bei 23° stehengelassen. Übliche Aufarbeitung mit Chloroform-Äther (1:3) gab 212 mg fast farbloses Rohprodukt, das an 6 g Al_2O_3 chromatographiert wurde. Zum Eluieren jeder Fraktion dienten je 20 cm³ der in Tab. IX genannten Lösungsmittel.

Tabelle IX.

Fraktions-Nr.	Lösungsmittel	Eindampfrückstand	
		Menge in mg	Habitus, bei Kristallen Form und Smp.
1	Benzol	—	—
2—5	Benzol-Chloroform (9:1)	Spur	braunes Öl
6	Benzol-Chloroform (3:2)	11	amorph, farblos
7	Benzol-Chloroform (3:2)	34	Nadeldrusen, 125–130°
8	Benzol-Chloroform (3:2)	23	Nadeldrusen, 125–130°
9	Benzol-Chloroform (3:2)	12	amorph, farblos
10	Benzol-Chloroform (3:2)	9	amorph, farblos
11	Benzol-Chloroform (3:2)	11	amorph, farblos
12	Benzol-Chloroform (2:3)	13	amorph, farblos
13	Benzol-Chloroform (2:3)	12	amorph, farblos
14	Benzol-Chloroform (2:3)	9	amorph, farblos
15	Chloroform	10	amorph, farblos
16—18	Chloroform	24	Prismen, 206–215°
19—20	Chloroform-Methanol (98:2)	25	Prismen, 206–215°
21	Chloroform-Methanol (95:5)	—	—

Die Fraktionen 6–8 gaben zusammen aus Aceton-Äther 15 mg zu Drusen vereinigte Nadeln, Smp. 140–145° (Gelbfärbung). Diese Kristalle waren S-frei, Tetranitromethanprobe: negativ. Farbreaktion mit 84-proz. H_2SO_4 : lila (1 Min.), lila-violett (30 Min.), violett (1 Std.), violett-verblassend (3 ½ Std.). Sie wurden nicht weiteruntersucht.

Die Mutterlauge der Fraktionen 6–8 war S-haltig. Sie wurde mit den ebenfalls S-haltigen amorphen Fraktionen 9–14 vereinigt. Dieses Material (zusammen 106 mg) stellte das rohe Tosylat IV dar und diente für die Behandlung mit Pyridin (siehe unten).

Die Fraktionen 16–20 gaben aus Aceton-Äther ca. 16 mg unverändertes Periplogenin.

Die 106 mg rohes Tosylat IV wurden mit 1 cm³ abs. Pyridin im Vakuum eingeschmolzen und 16 Std. auf 136° erhitzt (siedendes Xylol), wobei sich die Mischung dunkelbraun färbte.

¹⁾ Bereitet aus Periplocymarin. Spaltung nach Vorschrift von *S. Rangaswami & T. Reichstein*, Helv. **32**, 939 (1949).

²⁾ Gereinigt nach *F. Reber & T. Reichstein*, Helv. **28**, 1164 (1945).

Übliche Aufarbeitung mit Chloroform-Äther (1:4) gab 59 mg gelbes Rohprodukt, das an 2 g Al_2O_3 chromatographiert wurde.

Die Fraktionen 2–8 (zusammen 17 mg, eluiert mit Benzol-Chloroform (9:1) und (4:1), Tetranitromethanprobe: positiv) gaben aus Methanol-Äther 10 mg 3,5-Dianhydro-periplogenin in Plättchen, Smp. 194–212° (Zers., Gelbfärbung).

Die Fraktionen 9–10 (5 mg, eluiert mit Benzol-Chloroform (4:1), Tetranitromethanprobe: positiv) gab aus Methanol-Äther ein Kristallgemisch (Nadeln und Plättchen, Smp. 181–211°), das nicht weiteruntersucht wurde.

Die Fraktionen 11–19 (25 mg, eluiert mit Benzol-Chloroform (4:1) und (3:2)) gaben aus Methanol-Äther 5 mg feine Nadeln, aus Aceton-Äther längliche Blättchen, Smp. 210–217°, Tetranitromethanprobe: negativ. Misch-Smp. mit Periplogenin ohne Depression.

Fraktion 20 (7 mg, eluiert mit Chloroform) gab aus Methanol-Äther noch 2 mg Periplogenin, Smp. 210–220°.

3,5-Dianhydro-periplogenin (VI) teilsynthetisch aus III.

Die obigen 10 mg Kristalle vom Smp. 194–212° (Zers.) zeigten $[\alpha]_{\text{D}}^{24} = -46,9^\circ \pm 3^\circ$ ($c = 0,681$ in Chloroform).

6,90 mg Subst. zu 1,0130 cm^3 ; $l = 1$ dm; $\alpha_{\text{D}}^{24} = -0,319^\circ \pm 0,02^\circ$

3,649 mg Subst. gaben 10,429 mg CO_2 und 2,749 mg H_2O (OAB)

$\text{C}_{23}\text{H}_{30}\text{O}_3$ (354,47) Ber. C 77,80 H 8,58% Gef. C 78,00 H 8,43%

UV.-Absorptionsspektrum vgl. Kurve VI synth., theoret. Teil.

Die Mischprobe mit dem Spaltprodukt aus „Kristallinat Nr. 4“ gab keine Smp.-Erniedrigung, auch die Farbreaktionen mit 84-proz. H_2SO_4 sowie mit Tetranitromethan waren genau gleich.

Die Mikroanalysen wurden in folgenden Laboratorien ausgeführt: Mikrolabor der Organisch-Chemischen Anstalt, Basel (Leitung E. Thommen) (OAB), bei Herrn A. Peisker, Brugg (A. P.), bei Frau Dr. M. Sobotka und Herrn Dr. E. Wiesenberger, Graz (S. W.).

Zusammenfassung.

Die Isolierung der wichtigsten Glykoside der Samen von *Acokanthera friesiorum* Markgr. aus Kenya wird beschrieben. Die Samen enthielten als Hauptkomponente ca. 1,7 % des bekannten Acovenosid A. Daneben liessen sich aber auch etwa 0,1 % Ouabain isolieren sowie kleine Mengen von Acolongiflorosid E, Acolongiflorosid G, Acolongiflorosid H, Acolongiflorosid-K-Acetat und ein Kristallinat, das als „Kristallinat Nr. 4“ bezeichnet wird und das ein Gemisch darstellt. Durch Verteilungschromatographie liess es sich in 3 Komponenten zerlegen, von denen eine mit Acolongiflorosid E identisch war, während die zwei anderen neue Glykoside darstellten, die als Acofriosid L und Acofriosid M bezeichnet werden. – Für einen Abbau war nicht genügend von diesen zwei Stoffen in reiner Form vorhanden, hingegen wurde die Spaltung von „Kristallinat Nr. 4“ mit HCl in Aceton durchgeführt. Das in diesem Gemisch erhaltene Acolongiflorosid E blieb dabei weitgehend unverändert. Als Spaltprodukte wurden ein neuer krist. Zucker erhalten, den wir Acofriose (V) nennen, sowie 3,5-Dianhydro-periplogenin (VI), das sich zum Vergleich auch teilsynthetisch aus Periplogenin bereiten liess. Wir vermuten, dass

diese zwei Spaltstücke aus Acofriosid L stammen, so dass sich für dieses Glykosid eine Teilformel aufstellen liess.

Die analoge Spaltung eines Präparates von Acolongiflorosid H, das aber nicht rein war und unter anderem Acolongiflorosid G enthielt, gab als Zucker ebenfalls krist. Acofriose in guter Ausbeute. Daneben konnte eine kleine Menge eines Genins erhalten werden, das wir Genin H.M.15 nennen. Wegen der schlechten Ausbeute ist es unsicher, ob es überhaupt aus Acolongiflorosid H stammt.

Curriculum vitae.

Als Sohn des Charles Muhr, Dr. ing. chem., in Basel, und der Louise-Marie Muhr geb. Raeber, wurde ich, *Harald Charles Muhr*, Bürger von Zürich, am 22. Februar 1925 in Zürich geboren. Nach Besuch der Primarschule und Sekundarschule in Wattwil (Kt. St. Gallen) trat ich 1938 in das Mathematisch-naturwissenschaftliche Gymnasium Basel ein und bestand im Frühjahr 1944 die Reifeprüfung. Anschliessend immatrikulierte ich mich an der Philosophisch-naturwissenschaftlichen Fakultät der Universität Basel zum Studium der Chemie. Während des Studiums bestand ich folgende Prüfungen: Nebenfachexamen in Mineralogie, Physikalischer Chemie, Physik und die anorganischen bzw. organischen Vorexamen.

Die vorliegende Arbeit entstand in der Zeit vom August 1950 bis Januar 1953 unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. T. Reichstein.

Im Verlaufe meines Studiums besuchte ich die Vorlesungen und Kurse der Herren Professoren und Dozenten M. Brenner, H. Dahn, H. Erlenmeyer, C. Grob, P. Huber, H. Kuhn, W. Kuhn, A. Portmann, T. Reichstein, M. Reinhard, P. Ruggli †, E. Schlittler, R. Wizinger.

Allen meinen Lehrern spreche ich meinen besten Dank aus.



